

FR 00  
0 2282

REC'D 18 SEP 2000	
WIPO	PCT

# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

**PRIORITY  
DOCUMENT**SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)**COPIE OFFICIELLE**

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **17 AOUT 2000**Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLESIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS Cédex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04  
Télécopie : 01 42 93 59 30

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Confirmation d'un dépôt par télécopie ☐

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

Réservé à l'INPI

DATE DE REMISE DES PIÈCES **11 AOUT 1999**  
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL **910411**  
DÉPARTEMENT DE DÉPÔT **75 INPI PARIS B**  
DATE DE DÉPÔT **11 AOUT 1999**

1 **NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE  
À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE**

**CABINET REGIMBEAU  
26, Avenue Kléber  
75116 PARIS**

2 **DEMANDE** Nature du titre de propriété industrielle

☒ brevet d'invention

☐ demande divisionnaire

☐ certificat d'utilité

☐ transformation d'une demande  
de brevet européen

demande initiale

☐ brevet d'invention

n° du pouvoir permanent

références du correspondant

téléphone

**238039 D18401 SE**

**01 45 00 92 02**

date

Établissement du rapport de recherche

☐ différé

☒ immédiat

Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance

☐ oui

☐ non

Titre de l'invention (200 caractères maximum)

**Microparticules pour administration pulmonaire**

3 **DEMANDEUR (S)** n° SIREN

code APE-NAF

Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination

**MAINELAB**

Forme juridique

**SOCIÉTÉ ANONYME**

Nationalité (s) **Française**

Adresse (s) complète (s)

**8, rue Andre Boquel, Parc scientifique des Capucins, 49100 ANGERS**

Pays

**FR**

4 **INVENTEUR (S)** Les inventeurs sont les demandeurs

☐ oui

☒ non

Si la réponse est non, fournir une désignation séparée

5 **RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES**

☐ requise pour la 1ère fois

☐ requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission

6 **DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE**

pays d'origine

numéro

date de dépôt

nature de la demande

7 **DIVISIONS**

antérieures à la présente demande

n°

date

n°

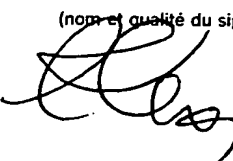
date

8 **SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE**

(nom et qualité du signataire)

SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION

SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI

 **92-1234**



**DÉPARTEMENT DES BREVETS**

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08


Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1 / 2**

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260899

<b>Vos références pour ce dossier</b> (facultatif) 238039 D18401 SC			
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>		99 10411	
<b>TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)</b>			
Microparticules pour administration pulmonaire			
<b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b>			
MAINELAB : 8, rue Andre Boquel, Parc scientifique des Capucins, 49100 ANGERS - FRANCE			
<b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).</b>			
<b>Nom</b>		RICHARD Joël	
<b>Prénoms</b>			
<b>Adresse</b>	<b>Rue</b>	La Modtais - BLOU, 49160 LONGUE, FR	
	<b>Code postal et ville</b>		
<b>Société d'appartenance (facultatif)</b>			
<b>Nom</b>		DULIEU Claire	
<b>Prénoms</b>			
<b>Adresse</b>	<b>Rue</b>	33 bis, rue Racine, 49000 ANGERS, FR	
	<b>Code postal et ville</b>		
<b>Société d'appartenance (facultatif)</b>			
<b>Nom</b>		LE MEURLAY Dominique	
<b>Prénoms</b>			
<b>Adresse</b>	<b>Rue</b>	17 avenue du Général Lamoricière, 49100 ANGERS, FR	
	<b>Code postal et ville</b>		
<b>Société d'appartenance (facultatif)</b>			
<b>DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)</b>			
 92-1234			

DÉPARTEMENT DES BREVETS

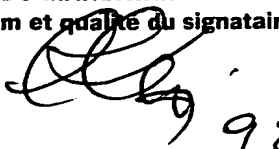
26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 2 / 2  
(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260899

<b>V s références pour ce dossier</b> (facultatif) 238039 D18401 SC			
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>		99 10411	
<b>TITRE DE L'INVENTION</b> (200 caractères ou espaces maximum)			
Microparticules pour administration pulmonaire			
<b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b>			
MAINELAB : 8, rue Andre Boquel, Parc scientifique des Capucins, 49100 ANGERS - FRANCE			
<b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b> (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		BENOIT Jean-Pierre	
Prénoms			
Adresse	Rue	45, Allée des Châtaigniers, 49240 AVRILLE, FR	
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom			
Prénoms			
Adresse	Rue		
	Code postal et ville		
Société d'appartenance (facultatif)			
<b>DATE ET SIGNATURE(S)</b> <b>DU (DES) DEMANDEUR(S)</b> <b>OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire)			
 92-1234			

 **ORIGINAL**

5           La présente invention concerne le domaine des microparticules destinées à être administrées par la voie pulmonaire.

          Une étude bibliographique a permis de mettre en évidence que de nombreuses recherches relatives à cette technologie ont été effectuées.

          Des aérosols pour la libération d'agents thérapeutiques dans les  
10   voies respiratoires ont été décrits par exemple (Adjei, A. et Garren, J. Pharm. Res., 7 : 565-569 (1990) ; et Zanen, P. et Lamm, J.W.J. Int. J. Pharm., 114 : 111-115 (1995)). Les voies respiratoires comprennent les voies respiratoires supérieures qui incluent le larynx et l'oro-pharynx , et les voies respiratoires inférieures incluant la trachée qui se poursuit en  
15   bifurcations : les bronches et les bronchioles. Les bronchioles terminales se divisent ensuite en bronchioles respiratoires qui conduisent à la zone ultime du système respiratoire, les alvéoles pulmonaires encore nommées le poumon profond (Gonda, I. « Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract, » dans Critical Reviews in  
20   Therapeutic Drug Carrier Systems, 6 : 273-313 (1990)). Le poumon profond ou les alvéoles sont la cible principale des aérosols thérapeutiques par inhalation destinés à la voie systémique. Les aérosols destinés à être inhalés ont déjà été utilisés pour le traitement de troubles pulmonaires locaux tel que l'asthme et la fibrose cystique (Anderson et al.,  
25   Am. Rev. Respir. Dis., 140 : 1317-1324 (1989)). En outre, ils peuvent être utilisés pour la libération systémique de peptides et de protéines (Patton et Platz, Advanced Drug Delivery Reviews, 8 : 179-196 (1992)). Cependant on rencontre un certain nombre de difficultés lorsque l'on veut appliquer la libération médicamenteuse par voie pulmonaire à la libération de  
30   macromolécules. Parmi ces difficultés, on compte la dénaturation de la protéine lors de la nébulisation, une perte significative du taux de médicaments inhalés dans l'oro-pharynx (qui excède souvent 80 %), un

mauvais contrôle de la zone de déposition, une mauvaise reproductibilité des résultats thérapeutiques due aux variations des modèles respiratoires, une absorption trop rapide des médicaments générant des effets toxiques locaux, et une phagocytose par les macrophages du poumon.

5 Le poumon humain peut éliminer ou dégrader rapidement les produits hydrolysables déposés sous forme d'aérosols, ce phénomène se déroule généralement sur une période comprise entre quelques minutes et quelques heures. Dans les voies pulmonaires supérieures, l'épithélium cilié contribue au phénomène de « mucociliary escalator » par lequel les  
10 particules sont entraînées depuis les voies pulmonaires jusqu'à la bouche (Pavia, D. « Lung Mucociliary Clearance, » in *Aerosols and the Lung : Clinical and Experimental Aspects*, Clarke, S.W. et Pavia, D., Eds., Butterworths, London, 1984. ; Anderson et al., *Am. Rev. Respir. Dis.*, 140 : 1317-1324 (1989)). Dans le poumon profond les macrophages alvéolaires  
15 sont capables de phagocyter les particules aussitôt après leur déposition.

Les thérapies locales et systémiques par inhalation permettent généralement une libération contrôlée et relativement lente du principe actif (Gonda, I., « Physico-chemical principles in aerosol delivery, » in : *Topics in Pharmaceutical Sciences 1991*, D.J.A. Crommelin et K.K. Midha, Eds., Stuttgart : Medpharm Scientific Publishers, pp. 95-117 (1992)). La  
20 libération lente de l'aérosol thérapeutique peut prolonger le temps de séjour du médicament administré dans les voies pulmonaires ou dans les acini et diminuer le taux d'entrée des médicaments dans le flux sanguin. Ainsi la tolérance du patient est augmentée par réduction de la fréquence  
25 des administrations (Langer, R., *Science*, 249 : 1527-1533 (1990) ; et Gonda, I. « Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract, » dans *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 6 : 273-313 (1990)).

30 Parmi les inconvénients que représentent les formulations de poudres sèches, on dénombre le fait que les poudres de particules ultra-fines présentent des propriétés d'écoulement et de nébulisation

généralement mauvaises, conduisant à l'obtention de fractions d'aérosols qui sont admises dans le système respiratoire de manière relativement lente, ces fractions de l'aérosol inhalé se déposent généralement dans la bouche et dans la gorge (Gonda, I., dans Topics in Pharmaceutical Sciences, 1991, D. Crommelin et K. Midha, Editors, Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers, 95-117 (1992)).

Le principal problème rencontré avec la plupart des aérosols est l'agrégation particulaire générée par les interactions inter-particules tels que les interactions hydrophobes, électrostatiques et capillaires. Une  
10  
thérapie efficace par inhalation de poudre sèche pour la libération à la fois immédiate et soutenue d'agents thérapeutiques, à la fois au niveau local et systémique, nécessite l'utilisation d'une poudre présentant une agrégation minimale qui permet d'éviter ou au moins de suspendre les mécanismes de clairance naturelle du poumon jusqu'au moment où le  
15  
principe actif est libéré.

Il existe actuellement une demande d'aérosols pour inhalation améliorés destinés à la libération pulmonaire d'agents thérapeutiques. De même il existe actuellement un besoin de supports de médicament qui sont capables de libérer le médicament en quantité efficace dans les voies  
20  
pulmonaires ou dans les zones alvéolaires des poumons.

En outre, il existe aussi un besoin de supports de médicaments qui puissent être utilisés en tant qu'aérosols pour inhalation qui soient biodégradables et qui permettent de libérer les médicaments de façon contrôlée dans les voies pulmonaires et la zone alvéolaire des poumons,  
25  
de même il existe une demande de particules pour la libération de médicament au niveau pulmonaire qui présentent des propriétés de nébulisation améliorées.

Ces recherches tendent à montrer qu'il est difficile de préparer des microparticules qui répondent aux critères que leur imposent leurs  
30  
applications dans des conditions efficaces.

Afin de présenter une efficacité suffisante, ces microparticules ne doivent pas être endommagées au cours de l'administration, lors de leur



passage sous forme nébulisée. La biodisponibilité de ces microparticules doit atteindre une valeur suffisamment élevée, or la biodisponibilité des microparticules de l'art antérieur n'excède généralement pas 50 %, à cause d'un faible taux de déposition des microparticules dans les régions pulmonaires alvéolaires.

En outre, afin de conserver leur efficacité lors d'une administration pulmonaire, les microparticules une fois déposées dans les alvéoles, doivent être suffisamment stables dans la muqueuse de la surface de ces alvéoles.

Ainsi il peut s'avérer intéressant de préparer des microparticules à libération immédiate ou retardée, au niveau local ou systémique, cependant ces microparticules présentent généralement une couche externe dont l'épaisseur par rapport au diamètre de ladite particule n'est pas négligeable.

Les microparticules selon l'invention sont constituées d'un cœur contenant la matière active enrobée d'une membrane d'agent enrobant déposé par la technique du fluide supercritique. Cette structure particulière les distingue des microparticules de l'art antérieur qui sont des microsphères matricielles obtenues par des techniques d'émulsion-évaporation de solvant, d'extraction de solvant par des phases aqueuses ou de nébulisation-séchage de solution organique.

Par conséquent, la présente invention concerne des microparticules biocompatibles destinées à être inhalées comprenant au moins un principe actif et au moins une couche enrobant ce principe actif qui est la couche externe desdites microparticules, ladite couche externe contenant au moins un agent enrobant, caractérisées en ce que lesdites microparticules sont uniformément enrobées, possèdent un diamètre moyen compris entre 1  $\mu\text{m}$  et 30  $\mu\text{m}$ , une densité apparente comprise entre 0,02  $\text{g/cm}^3$  et 0,8  $\text{g/cm}^3$  et qu'elles sont susceptibles d'être obtenues selon un procédé comprenant les étapes essentielles qui sont la mise en présence d'un agent enrobant avec un principe actif et l'introduction d'un fluide supercritique.

Ces microparticules ne s'agglomèrent pas lorsqu'elles sont administrées, et peuvent éventuellement permettre une libération prolongée du principe actif. Les microparticules selon l'invention présentent une biodisponibilité supérieure à 60% et de préférence supérieure à 80% grâce à une amélioration du taux de déposition des particules dans les zones pulmonaires alvéolaires.

Il a ainsi été mis en évidence que la mise en œuvre d'un procédé de préparation de microparticules par une technique dite du fluide supercritique en utilisant, en tant qu'agent enrobant, des matériaux biocompatibles judicieusement choisis permet d'obtenir des microparticules de taille contrôlée et qui présentent un état de surface tel que lesdites microparticules ne s'agglomèrent pas et se déposent dans les zones pulmonaires alvéolaires.

Les microparticules biocompatibles destinées à l'inhalation selon l'invention possèdent une couche externe d'épaisseur uniforme comprenant un agent enrobant qui empêche l'agrégation de ces particules entre elles. Elles sont obtenues par un procédé permettant un enrobage qui épouse la surface de ces microparticules dans ces aspérités. La qualité de cet enrobage est essentiellement due à la technique du fluide supercritique.

Ledit procédé comprend deux étapes essentielles qui sont la mise en présence d'un agent enrobant avec un principe actif et l'introduction d'un fluide supercritique afin d'assurer la coacervation de l'agent enrobant. Il ressort clairement de la suite de la description, que ces deux étapes ne sont pas obligatoirement effectuées dans l'ordre annoncé.

Le premier procédé de préparation des microparticules selon l'invention se distingue du second procédé par le fait que l'agent enrobant n'est à aucun moment en solution dans le fluide à l'état liquide ou supercritique.

En effet, une première mise en œuvre du procédé selon l'invention comprend les étapes suivantes :

- mettre en suspension un principe actif dans une solution d'au moins un agent enrobant sensiblement polaire dans un solvant organique,  
 ledit principe actif étant insoluble dans le solvant organique,  
 5 ledit agent enrobant sensiblement polaire étant insoluble dans un fluide à l'état supercritique,  
 ledit solvant organique étant soluble dans un fluide à l'état supercritique,
- mettre en contact la suspension avec un fluide à l'état  
 10 supercritique, de façon à désolvater de façon contrôlée l'agent enrobant sensiblement polaire et assurer sa coacervation,
- extraire substantiellement le solvant au moyen d'un fluide à l'état supercritique et évacuer le mélange fluide SC /solvant,
- récupérer les microparticules.

15 Le fluide utilisé pour la mise en œuvre de ce premier procédé est de préférence le CO<sub>2</sub> liquide ou à l'état supercritique (fluide SC).

Le solvant organique utilisé pour la mise en œuvre de ce premier procédé est généralement choisi dans le groupe constitué par les cétones, les alcools et les esters.

20 La mise en contact du fluide supercritique avec la suspension de principe actif contenant l'agent enrobant en solution est effectuée, soit par introduction du fluide supercritique dans un autoclave contenant déjà la suspension, soit par injection de la suspension dans un autoclave contenant le fluide supercritique.

25 Lorsque le fluide supercritique employé est le CO<sub>2</sub> on peut utiliser du CO<sub>2</sub> sous forme liquide ou directement du CO<sub>2</sub> à l'état supercritique.

Selon une autre variante, on peut aussi mettre la suspension en contact avec du CO<sub>2</sub> liquide qui passera ensuite à l'état supercritique par augmentation de la pression et/ou de la température dans l'autoclave afin  
 30 d'extraire le solvant.

Lorsque l'on choisit d'utiliser la variante CO<sub>2</sub> liquide, la température est choisie de préférence entre 20 et 50°C et la pression entre 50 et 150

$10^5$  Pa. Lorsque la variante  $\text{CO}_2$  supercritique est utilisée, on choisit généralement la température entre 35 et 60°C, de préférence entre 35 et 50°C, et la pression entre 80 et 250  $10^5$  Pa, de préférence entre 100 et 220  $10^5$  Pa.

5 La masse de solvant organique introduite dans l'autoclave représente au moins 3 %, de préférence entre 3,5 % et 25 % de la masse du fluide supercritique ou liquide utilisé pour provoquer la désolvatation de l'agent enrobant. Les microparticules obtenues par la mise en œuvre de ce premier procédé présentent une couche externe quasiment exempte  
10 de solvant, la quantité de solvant dans la couche externe est en effet inférieure à 500 ppm. De plus, les microparticules ainsi obtenues présentent un état de surface parfaitement lisse (absence d'aspérités).

Les agents enrobants utilisables pour la mise en œuvre de ce premier procédé sont plus particulièrement les (co)polymères  
15 biodégradables des acides  $\alpha$ -hydroxycarboxyliques, notamment les homopolymères et copolymères des acides lactiques et glycoliques, et plus particulièrement le PLA (Poly-L-lactide) et le PLGA (Poly-Lactic-co-Glycolic-Acid), les polymères biocompatibles de type polyéthylène glycol, polyoxydes d'éthylène, les copolymères-blocs de type polyoxydes  
20 d'éthylène-polyoxydes de propylène, et les polysaccharides.

La mise en œuvre du deuxième procédé selon l'invention consiste à mettre un principe actif en suspension dans un fluide supercritique contenant au moins un agent enrobant dissous dans celui-ci puis à  
25 modifier les conditions de pression et /ou de température du milieu pour assurer la coacervation des particules, par précipitation de l'agent enrobant autour des particules de principe actif, c'est-à-dire assurer la coacervation des particules par modification physico-chimique du milieu.

Les agents enrobants utilisables pour la mise en œuvre de ce  
30 deuxième procédé sont plus particulièrement les phospholipides tels que notamment la phosphatidylcholine (PC), le phosphatidylglycérol (PG), le diphosphatidylglycérol (DPG), la dipalmitoyl-phosphatidylcholine (DPPC),

la dioléyl-phosphatidyléthanolamine (DOPE), la dioléyl-phosphatidylcholine (DOPC), le dimyristoyl-phosphatidylglycérol (DMPG), les esters d'acides gras tels que le myristate d'isopropyle, le palmitate d'éthyle. Les polymères biodégradables ou bioérodibles solubles dans un fluide  
5 supercritique peuvent également être utilisés dans ce second procédé.

La coacervation (ou agrégation) d'un agent enrobant est provoquée par modification physico-chimique d'un milieu contenant une substance active en suspension dans une solution d'agent enrobant dans un solvant.

Le fluide supercritique préférentiellement utilisé est le CO<sub>2</sub>  
10 supercritique (CO<sub>2</sub>SC), les conditions de fonctionnement initiales typiques de ce deuxième procédé seront d'environ 31 à 80°C et les pressions de 75 à 250 10<sup>5</sup> Pa, bien que l'on puisse utiliser des valeurs plus élevées de l'un ou l'autre des deux paramètres ou les deux, à condition bien sûr que les valeurs plus élevées n'aient aucun effet nuisible ou de dégradation sur  
15 le principe actif en cours de revêtement, ni sur les agents enrobants.

Par ailleurs, on peut aussi choisir d'autres fluides utilisés couramment en tant que fluide supercritique, le document E.M. Phillips et V.J. Stella, *Int. J. Pharm*, 94, 1 à 10, 1993 – Rapid Expansion From Supercritical Solutions: Application To Pharmaceutical Processes -  
20 précise les conditions d'utilisation d'un certain nombre de ces fluides dans leur état supercritique.

Ce deuxième procédé implique la mise en suspension dans un autoclave, d'un principe actif non soluble dans le fluide supercritique, puis  
25 l'introduction dans cet autoclave de l'agent enrobant qui se trouve à l'état de soluté dans le fluide supercritique.

La pression et/ou la température sont ensuite modifiées de manière à diminuer la solubilité de l'agent enrobant dans le fluide. Ainsi l'affinité de l'agent enrobant pour le principe actif s'accroît de façon telle que cet  
30 enrobant s'adsorbe autour du principe actif. Une fois cet agent enrobant déposé sur le principe actif, l'autoclave est dépressurisé et les microparticules sont récupérées.

Pour mettre en œuvre ce deuxième procédé, on place le principe actif à revêtir dans un autoclave équipé d'un agitateur, puis on pressurise le système en introduisant dans l'autoclave un fluide amené dans des conditions supercritiques. Finalement on introduit le ou les agents enrobants dans l'autoclave, puis on modifie la température et/ou la pression à l'intérieur de l'autoclave d'une manière contrôlée et régulée de sorte à réduire progressivement la solubilité du ou des agents enrobants. Lorsque la solubilité de ce ou ces agents enrobants dans le fluide supercritique diminue, il(s) précipite(nt) et l'affinité de ces agents pour la surface du principe actif conduit à leur adsorption sur cette surface. Une variante de ce procédé consiste à placer l'agent enrobant dans l'autoclave avant d'y introduire le principe actif ou encore en y introduisant simultanément le principe actif puis un fluide susceptible de passer à l'état supercritique. La pressurisation de l'autoclave pour produire un état de fluide supercritique provoquera alors la dissolution de l'agent enrobant dans ledit fluide supercritique.

On assure ainsi le dépôt de l'agent enrobant de façon telle que cet agent épouse fidèlement la surface du principe actif.

Le principe actif peut se présenter sous la forme d'un liquide qui peut ainsi former une émulsion dans le fluide supercritique, de particules solides préformées, et notamment de microparticules éventuellement déjà enrobées par exemple avec des mono- ou disaccharides. Les vitesses d'agitation peuvent varier entre 200 et 400 tours/min pour les particules solides et entre 600 et 1000 tours/min lorsque le principe actif est un liquide.

Une telle agitation assure la mise en suspension du principe actif dans le fluide supercritique lorsque celui-ci est introduit. Les conditions supercritiques sont assurées par une modification de la température et/ou de la pression à l'intérieur de l'autoclave. Ainsi, la température de l'autoclave est comprise entre 35 et 80°C, de préférence entre 35 et 45°C et la pression est comprise entre 100 et 250  $10^5$  Pa et de préférence entre 180 et 220  $10^5$  Pa. L'agent enrobant est introduit dans l'autoclave en

même temps que le fluide supercritique ou bien après l'introduction dans l'autoclave du fluide supercritique. En tous les cas pour assurer une bonne solubilisation de l'agent enrobant dans le fluide supercritique, on maintient le système à l'équilibre sous agitation, on établit la concentration adéquate en principe actif et en agent enrobant en fonction de la microparticule voulue et on laisse cet équilibre sous agitation pendant une heure. On module ensuite la température et la pression à une vitesse suffisamment lente pour transférer complètement le ou les agents enrobants du fluide supercritique à la surface du principe actif et on dépressurise le système pour isoler les microparticules que l'on retire de l'autoclave.

Les microparticules selon la présente invention présentent un diamètre compris entre 1  $\mu\text{m}$  et 30  $\mu\text{m}$ , de préférence compris entre 2  $\mu\text{m}$  et 15  $\mu\text{m}$ , et de manière encore plus préférée entre 3  $\mu\text{m}$  et 8  $\mu\text{m}$  et une densité apparente comprise entre 0,02  $\text{g/cm}^3$  et 0,8  $\text{g/cm}^3$  et de préférence comprise entre 0,05  $\text{g/cm}^3$  et 0,4  $\text{g/cm}^3$ .

Le rapport massique principe actif/agent enrobant de ces microparticules est compris entre 95/5 et 5/95.

Dans le cas de microparticules à libération contrôlée, la quantité de principe actif est faible par rapport à l'agent enrobant, le rapport massique principe actif/agent enrobant est alors compris entre 5/95 et 20/80, au contraire dans le cas où l'enrobage est destiné à stabiliser la particule, notamment lorsque la microparticule est à libération immédiate, le rapport massique principe actif/agent enrobant est généralement compris entre 95/5 et 70/30 et de préférence entre 95/5 et 80/20.

Les agents enrobants des microparticules selon l'invention sont :

- les (co)polymères biodégradables des acides  $\alpha$ -hydroxycarboxyliques, notamment les homopolymères et copolymères des acides lactiques et glycoliques, et plus particulièrement le PLA (Poly-L-lactide) et le PLGA (Poly-Lactic-co-Glycolic-Acid), les polymères biocompatibles de type polyéthylène glycol, polyoxydes d'éthylène, les copolymères-blocs de type polyoxydes d'éthylène-polyoxydes de propylène, et les polysaccharides, ou un mélange d'au moins deux

composés choisis parmi les (co)polymères biocompatibles et biodégradables présentés ci-dessus et tels qu'ils présentent des solubilités adaptées,

- phospholipides tels que notamment la phosphatidylcholine (PC),  
 5 le phosphatidylglycérol (PG), le diphosphatidylglycérol (DPG), la dipalmitoyl-phosphatidylcholine (DPPC), la dioléyl-phosphatidyléthanolamine (DOPE), la dioléyl-phosphatidylcholine (DOPC), le dimyristoyl-phosphatidylglycérol (DMPG), les esters d'acides gras tels que le myristate d'isopropyle, le palmitate d'éthyle, les polymères  
 10 biodégradables ou bioérodibles solubles dans un fluide supercritique ou un mélange d'au moins deux composés choisis parmi les phospholipides et les esters d'acides gras présentés ci-dessus et tels qu'ils présentent des solubilités adaptées.

- 15 Ledit principe actif peut se présenter sous la forme d'un liquide, d'une poudre solide ou d'une particule solide poreuse inerte comprenant sur sa surface un principe actif.

- Les principes actifs utilisés sont choisis parmi des composés thérapeutiques et prophylactiques très variés. Ils sont plus  
 20 particulièrement choisis parmi les protéines et les peptides tels que l'insuline, la calcitonine, les analogues de l'hormone LH-RH, les polysaccharides tels que l'héparine, les anti-asthmiques tels que le budésonide, le dipropionate de béclo-métasone et son métabolite actif le 17-monopropionate de béclo-métasone, les hormones béta-estradiol, la  
 25 testostérone, les bronchodilatateurs tels que l'albutérol, les agents cytotoxiques, les corticoïdes, les antigènes, les fragments d'ADN...

Les exemples qui suivent illustrent l'invention sans en limiter la portée.



### **Exemple 1**

Cet exemple illustre le premier procédé de mise en œuvre de l'invention.

5            On solubilise 80 mg de PLGA dans 80 ml d'acétate d'éthyle. On met 400 mg d'insuline micronisée en suspension dans la solution ainsi obtenue et on place la suspension dans un autoclave de capacité 1,5 l. Dans un premier temps on augmente la pression à  $100 \cdot 10^5$  Pa en introduisant le  $\text{CO}_2$  liquide tout en restant à température constante de  
10     $28^\circ\text{C}$ .

Le  $\text{CO}_2$  à l'état liquide se mélange avec la suspension permettant ainsi de mouiller l'insuline, et permettant aussi d'assurer la précipitation progressive de l'agent enrobant.

On fait passer le  $\text{CO}_2$  à l'état supercritique en augmentant  
15    progressivement la pression jusqu'à  $200 \cdot 10^5$  Pa. On maintient conjointement la température à  $40^\circ\text{C}$ . Ainsi on extrait l'acétate d'éthyle. On maintient ces conditions pendant 15 minutes, puis on évacue le mélange  $\text{CO}_2$ /acétate d'éthyle en décompressant jusqu'à  $75 \cdot 10^5$  Pa dans un séparateur. L'acétate d'éthyle est récupéré dans ce séparateur et le  $\text{CO}_2$  à  
20    l'état supercritique retourne dans un réservoir.

On récupère l'acétate d'éthyle et on réitère les cycles successifs d'introduction du  $\text{CO}_2$  liquide, de passage à l'état supercritique et d'évacuation du  $\text{CO}_2$  + acétate d'éthyle jusqu'à élimination complète de l'acétate d'éthyle.

25            La décompression se fait obligatoirement par la phase gazeuse afin de ne pas reconcentrer d'agent enrobant dans l'acétate d'éthyle restant. Après la phase de décompression on peut répéter l'opération plusieurs fois en réintroduisant du  $\text{CO}_2$  afin de retrouver une pression de  $200 \cdot 10^5$  Pa et une température de  $40^\circ\text{C}$ . Finalement on dépressurise et on extrait le  
30    mélange  $\text{CO}_2$  + solvant puis on réintroduit du  $\text{CO}_2$  frais que l'on porte à l'état supercritique afin d'extraire complètement le solvant. La température

dans ce cas est généralement comprise entre 35 et 45°C et la pression entre 180 et 220  $10^5$  Pa.

On obtient ainsi 460 mg de microparticules non agrégées de taille moyenne de 3  $\mu\text{m}$  et comprenant 87 % en poids d'insuline, qui présentent des propriétés de nébulisation améliorées.

## **Exemple 2**

Cet exemple illustre le deuxième procédé de mise en œuvre de l'invention.

On place 1,3 g de dipalmitoyl-phosphatidylcholine (DPPC) dans un sac scellé formé à partir de papier filtre poreux (porosité 2  $\mu\text{m}$ ), ledit sac étant ensuite fixé à l'arbre de l'agitateur placé dans un autoclave de capacité 1,5 l.

On ajoute ensuite 3,0 g de dipropionate de béclo-métasone sous forme de poudre libre préparée par atomisation. On scelle l'autoclave, on met sous agitation à 430 tours/min puis on pressurise l'intérieur de l'autoclave en ajoutant du  $\text{CO}_2$ . Lorsque l'autoclave est pressurisé, on augmente la température de l'autoclave jusqu'à 50°C. La pression de l'autoclave est ainsi de 220  $10^5$  Pa. Le  $\text{CO}_2$  se trouve alors sous forme supercritique.

On laisse ensuite le système s'équilibrer pendant une heure. L'agent enrobant initialement à l'intérieur du sac se dissout ainsi dans le  $\text{CO}_2$  supercritique et forme une solution homogène dans l'autoclave. On diminue ensuite lentement la température de l'autoclave à 27°C à vitesse linéaire pendant une durée de 38 minutes en partant de 50°C. La phase en suspension dans le  $\text{CO}_2$  supercritique se transforme ainsi en un mélange de  $\text{CO}_2$  liquide et gazeux, les particules de principe actif étant en suspension dans le  $\text{CO}_2$  liquide. En dépressurant ensuite jusqu'à la pression atmosphérique on obtient des particules de dipropionate de béclo-métasone revêtu d'une couche uniforme de DPPC.

On obtient ainsi 3,7 g de microparticules non agrégées de dipropionate de béclométa-sone de diamètre moyen égal à 5  $\mu\text{m}$  enrobées d'une couche continue de DPPC, qui présentent des propriétés de nébulisation améliorées.

## REVENDEICATIONS

1. Microparticule biocompatible destinée à être inhalée comprenant au moins un principe actif et au moins une couche enrobant  
 5 ce principe actif qui est la couche externe de ladite microparticule, ladite couche externe contenant au moins un agent enrobant, caractérisée en ce que ladite microparticule est uniformément enrobée, possède un diamètre moyen compris entre 1  $\mu\text{m}$  et 30  $\mu\text{m}$ , une densité apparente comprise entre 0,02  $\text{g/cm}^3$  et 0,8  $\text{g/cm}^3$  et qu'elle est susceptible d'être obtenue  
 10 selon un procédé comprenant les étapes essentielles qui sont la mise en présence d'un agent enrobant avec un principe actif et l'introduction d'un fluide supercritique.

2. Microparticules selon la revendication 1, caractérisées en ce  
 15 qu'elles possèdent un diamètre moyen compris entre 2  $\mu\text{m}$  et 15  $\mu\text{m}$ , et de manière encore plus préférée entre 3  $\mu\text{m}$  et 8  $\mu\text{m}$  et une densité apparente comprise entre 0,05  $\text{g/cm}^3$  et 0,4  $\text{g/cm}^3$ .

3. Microparticule selon la revendication 1 ou 2 susceptible d'être  
 20 obtenue par un procédé comprenant les étapes suivantes :

- mettre en suspension un principe actif dans une solution d'au moins un agent enrobant sensiblement polaire dans un solvant organique,  
 ledit principe actif étant insoluble dans le solvant organique,  
 25 ledit agent enrobant sensiblement polaire étant insoluble dans un fluide à l'état supercritique,  
 ledit solvant organique étant soluble dans un fluide à l'état supercritique,
- mettre en contact la suspension avec un fluide à l'état  
 30 supercritique, de façon à désolvater de façon contrôlée l'agent enrobant sensiblement polaire et assurer sa coacervation,

- extraire substantiellement le solvant au moyen d'un fluide à l'état supercritique et évacuer le mélange fluide SC /solvant,
- récupérer les microparticules.

5           4. Microparticule selon la revendication 1 ou 2, susceptible d'être obtenue par un procédé qui consiste à mettre un principe actif en suspension dans un fluide supercritique contenant au moins un agent enrobant dissous dans celui-ci puis à assurer la coacervation des particules, par modification physico-chimique du milieu.

10

5. Microparticule selon la revendication 3, caractérisée en ce que l'agent enrobant est choisi dans le groupe formé par les (co)polymères biodégradables des acides  $\alpha$ -hydroxycarboxyliques, notamment les homopolymères et copolymères des acides lactiques et glycoliques, et  
15 plus particulièrement le PLA (Poly-L-lactide) et le PLGA (Poly-Lactic-co-Glycolic-Acid), les polymères biocompatibles de type polyéthylène glycol, polyoxydes d'éthylène, les copolymères-blocs de type polyoxydes d'éthylène,-polyoxydes de propylène et polysaccharides.

20 6. Microparticule selon la revendication 4, caractérisée en ce que l'agent enrobant est choisi dans le groupe formé par les phospholipides tels que notamment la phosphatidylcholine (PC), le phosphatidylglycérol (PG), le diphosphatidylglycérol (DPG), la dipalmitoyl-phosphatidylcholine (DPPC), la dioléyl-phosphatidyléthanolamine (DOPE), la dioléyl-  
25 phosphatidylcholine (DOPC), le dimyristoyl-phosphatidylglycérol (DMPG), les esters d'acides gras tels que le myristate d'isopropyle, le palmitate d'éthyle, les polymères biodégradables ou bioérodibles solubles dans un fluide supercritique.

30 7. Microparticule selon l'une des revendication 1 à 6, caractérisée en ce que le principe actif est choisi dans le groupe formé par les protéines et les peptides tels que l'insuline, la calcitonine, les analogues

de l'hormone LH-RH, les polysaccharides tels que l'héparine, les anti-asthmiques tels que le budésonide, le dipropionate de béclo-métasone et son métabolite actif le 17-monopropionate de béclo-métasone, les hormones béta-estradiol, la testostérone, les bronchodilatateurs tels que l'albutérol, les agents cytotoxiques, les corticoïdes, les antigènes, les fragments d'A.D.N.

8. Microparticule selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que le rapport massique principe actif/agent enrobant de cette particule est compris entre 95/5 et 5/95.

9. Microparticule selon la revendication 7 caractérisée en ce que la microparticule est à libération immédiate et que le rapport massique principe actif/agent enrobant de cette particule est compris entre 95/5 et 80/20.

10. Procédé de préparation de microparticules destinées à être inhalées et comprenant les étapes suivantes :

- mettre en suspension un principe actif dans une solution d'au moins un agent enrobant sensiblement polaire dans un solvant organique, ledit principe actif étant insoluble dans le solvant organique, ledit agent enrobant sensiblement polaire étant insoluble dans un fluide à l'état supercritique,
- ledit solvant organique étant soluble dans un fluide à l'état supercritique,
- mettre en contact la suspension avec un fluide à l'état supercritique, de façon à désolvater de façon contrôlée l'agent enrobant sensiblement polaire et assurer sa coacervation,
- extraire substantiellement le solvant au moyen d'un fluide à l'état supercritique et évacuer le mélange fluide SC /solvant,
- récupérer les microparticules.

11. Procédé de préparation de microparticules destinées à être inhalées qui consiste à mettre un principe actif en suspension dans un fluide supercritique contenant au moins un agent enrobant dissous dans celui-ci puis à assurer la coacervation des particules, par modification physico-chimique du milieu.

ORIGINAL

**CABINET REGIMBEAU**  
CONSEILS EN PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
26, Avenue Kléber  
75116 PARIS

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**